استحثاث الأجنة الجسمية المباشر من الأجنة الجنسية لهجينين من الطماطة خارج الجسم الحي

محمد شهاب حمد فرقد محمد كاظم الدباغ صالح محسن بدر
كلية الزراعة/جامعة بغداد وزارة الزراعة وزارة الزراعة

المستخلص:

نفذت تجربة لمعرفة تأثير ثلاثة من السايتوكاينينات وأوكسين NAA في استحثاث الأجنة الجسمية المباشر من الأجنة الجنسية، السويقات الجنينية السفلى والأوراق الفلقية لهجينين من الطماطة هما الشروق و GS-12. استخدمت أربعة تراكيز هي ٠.٠٠، ٠.٠١، ٠.١٠، ١.٠٠ ملغم/لتر من كل من BA أو TDZ أو Kin بالتداخل مع الأوكسين NAA بالتراكيز ٠، ١، ٢، ٣ ملغم/لتر ولكلا الهجينين، تم إجراء مقاطع تشريحية لتتبع مراحل تطور الأجنة الجسمية المباشر. بينت النتائج أن نوع الجزء النباتي المستخدم يعد عاملا" محددا" في تحفيز تكوين الأجنة الجسمية من هجيني الطماطة قيد البحث، لم تعط السويقات الجنينية السفلى والأوراق الفلقية أي نسبة لتكوين الأجنة الجسمية، بينما أعطت الأجنة الجنسية المستأصلة من بذور هجيني الطماطة المذكورين في أعطاء نسب جيدة من الأجنة الجسمية. تم الحصول على أعلى نسبة مئوية للنشوء بلغت ٩٠% مع أعلى معدل لعدد الأجنة الجسمية المتكونة بلغ ١٣.١ جنينا" عند زراعة الأجنة الجنسية على وسط MS المجهز بمعدل ٨٠ غم/لتر من السكروز مضافا" له ٠.٠١ و ٢ ملغم/لتر من TDZ وNAA على الترتيب لهجين الشروق وأعلى نسبة مئوية للنشوء بلغت ٩٠% مع أعلى معدل لعدد الأجنة الجسمية المتكونة ١٣.٥ جنينا جسميا عند زراعة الأجنة الجنسية لهجين GS-12 على وسط MS المجهز بمعدل ٨٠ غم/لتر من السكروز مضافا" له ٠.١ و ٢ ملغم/لتر من TDZ وNAA على الترتيب. نستنتج من هذه التجربة إن أفضل الأجزاء النباتية التي يمكن استخدامها للاستحثاث المباشر للأجنة الجسمية هي الأجنة الجنسية ولكلا هجيني الطماطة المدروسين. نوصي بأجراء المزيد من الدراسات لمعرفة التأثيرات الفسلجية لمنظمات النمو النباتية في نمو وتطور الأجنة الجسمية.

The Iraqi Journal of Agricultural Sciences 42 (3): ٤٦-٥٨,2011 Hamad et al .

DIRECT SOMATIC EMBRYOGENESIS FROM MATURE SEXUAL EMBRYOS OF TWO TOMATO HYBRIDS

Mohamed S. Hamad **Farqad M.K. Al-dabagh** **Salih M. Bader**
College of Agriculture University of Baghdad **Ministry of Agriculture** **Ministry of Agriculture**

ABSTRACT

An experiment on the effect of three cytokinins and NAA on direct somatic embryos induction was conducted. The explants were sexual embryos, hypocotyls and cotyledenous leaves of two hybrids of tomato, Choorouk and GS-12. Four levels of BA, Kin or TDZ (0.00, 0.01, 0.10, 1.00) mg/l and three concentrations (0, 1, 2, 3) mg/l of NAA were tested. A histological study to investigate the stages of direct somatic embryos initiation was implemented. The results indicated that the source of explants was effective on somatic embryos initiation for both hybrids under study. Somatic embryos were not induced from hypocotyls and cotyledenous leaves, however, sexual embryos for both hybrids were superior on somatic embryogenesis. Choorouk sexual embryos cultured on MS medium supplemented with 80 g/l of sucrose; 0.01 mg/l of TDZ and 2 mg/l NAA gave 90% somatic initiation percentage with 13.1 somatic embryos. While GS-12 sexual embryos cultured on MS medium modified with 80 g/l of sucrose; 0.1 mg/l of TDZ and 2 mg/l NAA resulted in 90% somatic initiation percentage with 13.5 somatic embryos. The study confirms that the sexual embryos are the best explants on somatic embryos initiation for both tomato hybrids. Further research and evaluation needs to be done to study the physiological effects of plant growth regulators on somatic embryos growth and development.

المقدمة

يعد استحثاث الأجنة الجسمية أحد طرق الإكثار الخضري خارج الجسم الحي والتي تنشأ نتيجة تحفيز خلايا أجنة البذور، الأوراق الفلقية للبادرات أو الأعضاء الخضرية للنباتات ومن ثم تطورها وإنتاجها نباتات كاملة (10،١١، ١٧). يعد تكون الأجنة الجسمية تقانة ذات جوانب متعددة لإكثار أنواع المحاصيل المختلفة بطرق الإكثار الدقيق ومن هذه المحاصيل، الطماطة *Lycopersicon esculentum* Mill. التي تعود للعائلة الباذنجانية Solanaceae والتي تعد من المحاصيل الزراعية المعروفة من حيث الأهمية الغذائية والطبية والتي يسعى المزارعون في كل أنحاء العالم لشراء بذورها ولنوعي الزراعة المكشوفة والمحمية (١، ٤، ٥، ٢٣). توسعت زراعة محصول الطماطة في العراق وذلك لزيادة الطلب على ثمارها إذ بلغت المساحة المزروعة ٥٢.٧٥ ألف هكتار وبإنتاج كلي بلغ ٨٠٢ ألف طن لعام ٢٠٠٨(٣). يلعب التركيب الوراثي دورا" مهما" في عملية تكون الأجنة الجسمية بسبب صعوبة الإخلاف في بعض التراكيب الوراثية بينما يسهل في البعض الآخر. وعلى الرغم من أمكانية استحثاث الأجنة الجسمية للعديد من الأنسجة النباتية تبقى الأجزاء النباتية المأخوذة من الأنسجة الفتية هي الأكثر استجابة لتكوين الأجنة الجسمية (٨)، وقد أجمع العديد من الباحثين على إن الأجنة الجنسية هي أفضل الأجزاء التي تحفز تكون الأجنة الخضرية دون المرور بمرحلة الكالس في حال زراعتها بوسط MS المجهز بتراكيز عالية من السكروز مضافا" له منظمات النمو النباتية، حينها حصلوا على الأجنة الجسمية بعد فترة لا تزيد عن ٢٠ يوما" من زراعة الأجنة الجنسية لأنواع نباتية مختلفة وبعدد لا يقل عن ستة أجنة خضرية لكل جنين جنسي (٤، ٩، ١٤، ٢٢). وعد (13) نوع الجزء النباتي من العوامل المحددة لتحفيز تكون الجنين الجسمي في الباذنجان *Solanum melongena* L. وبين إن الأوراق الحقيقية والأوراق الفلقية أعطت استجابات عالية وأكثر مما هو عليه مع السويقة الجنينية السفلى التي اختلفت استجاباتها باختلاف مواقعها العلوية والسفلية. وكما هو معروف فأنه لا غنى عن إضافة السايتوكاينينات والأوكسينات لأوساط نشوء وتطور الأجنة الجسمية وذلك لدورها المباشر في انقسام وتكشف واستطالة الخلايا (٢١)، ففي عام ١٩٩٣ تمكن (٩) من تحفيز نشوء أجنة الفلفل *Capsicum annuum* L.الخضرية بشكل مباشر من خلال زراعة أجنته الجنسية الناضجة على وسط MS المجهز بالـ 2,4-D تركيز ٢ ملغم/لتر مع حليب جوز الهند و ٨٠ غم/لتر من السكروز. وذكر الباحثان أن استحثاث أجنة الفلفل وتطورها جرت بخطوة واحدة أو باستخدام وسط غذائي واحد لكلا عمليتي النشوء والنضج. وفي عام ١٩٩٦ قام (٥) بدراسة استجابة ثلاثة أصناف من الفلفل للتحفيز المباشر للأجنة الجسمية من خلال زراعة الأجنة الجنسية المستأصلة من بذور هذه الأصناف على وسط MS المجهز بالسكروز بتركيز ٨% وبوجود TDZ و 2,4-D بالتراكيز ٣ و ٢ ملغم/لتر على التوالي. وبعد ١٥–٢١ يوم لوحظ نشوء الأجنة الجسمية بمراحلها المختلفة، وساعدت عملية أعادة زراعة الأجنة المستحثة مع أجزائها النباتية على نفس وسط النشوء على تطور هذه الأجنة. كما نفذ (٦) تجربة بحثية على أربع أصناف من الفلفل واتبع نفس الخطوات السابقة وذلك بزراعته الأجنة الجنسية الناضجة لبذور هذه الأصناف على وسط MS ذو التركيز العالي من السكروز مع تراكيز من TDZو 2,4-D وحصل على نسب مئوية لنشوء الأجنة الجسمية تراوحت بين ٥١% و٦٧% تبعا" للتركيب الوراثي للأصناف الأربعة المستخدمة. يهدف هذا البحث الى تحديد الجزء النباتي ونوع وتركيز بعض السايتوكاينينات المتداخلة مع

الأوكسين NAA في استحثاث الأجنة الجسمية لهجيني الطماطة الشروق و GS-12 لغرض إنتاج البذور الصناعية، فضلا" عن أجراء دراسة تشريحية لتتبع مراحل نشوء الأجنة الجسمية المباشر.

المواد والطرائق:

نفذت هذه التجربة في كل من مختبرات زراعة الأنسجة النباتية العائدة لقسم البستنة/كلية الزراعة– جامعة بغداد وقسم الوراثة والإكثار وقسم التقانات الإحيائية العائدين لكلية العلوم الطبيعية/ جامعة بوزنان، بولندا للفترة من كانون ثاني/٢٠٠٨ – نيسان/٢٠١٠. استعمل في هذا البحث بذور هجينين من هجن الطماطة المعتمدة من قبل وزارة الزراعة العراقية وقد تم شراؤها من الأسواق المحلية وهي الشروق الذي يعد هجينا" غير محدود النمو، يزرع في البيوت المحمية من إنتاج شركة Petoseed الأمريكية، و GS–12 وهو هجين محدود النمو يزرع في الحقول المكشوفة من إنتاج شركة Syngenta الهولندية.

عقمت البذور بالتركيز ٤% من القاصر التجاري الحاوي على ٦% من هايبوكلورات الصوديوم لمدة ١٠ دقائق ثم غسلت بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات ثم زرعت في أطباق بتري معقمة تحتوي على أوراق ترشيح معقمة ومرطبة بالماء المقطر المعقم وأغلقت جيدا" باستخدام Parafilm، حضنت البذور على درجة حرارة ٢٥±٢مْ وإضاءة ١٠٠٠ لوكس مدة ١٦ ساعة ضوء و٨ ساعات ظلام، ويلاحظ بأن ظروف التحضين هذه طبقت في جميع التجارب اللاحقة التي تستلزم التحضين ولجميع الأجزاء النباتية المزروعة (بذور، سويقات جنينية سفلى، أوراق فلقية، أجنة جنسية)، بعد أسبوعين أخذت البادرات النامية واستؤصلت منها الأجزاء المطلوبة وهي السويقات الجنينية السفلى (بطول ٥ ملم للسويقة) والأوراق الفلقية ولكلا الهجينين أما الأجنة الجنسية فقد استؤصلت بعد وضعها في الماء المقطر المعقم مدة ٢٤ ساعة لتسهيل فصل الأجنة، نفذت عملية الاستئصال تحت عدسة المجهر التشريحي بقوة تكبير ١٠ مرة باستخدام ملقط وشق غلافها بشفرة جراحية وفتحت الفلقتان وفصلت عن الجنين دون الأضرار بها، جرت العملية تحت ظروف معقمة في كابينة الزراعة. لاستحثاث الأجنة الجسمية من الأجزاء النباتية الثلاث، زرعت هذه الأجزاء في أطباق بتري تضم ٢٠ مل من وسط MS (16) المجهز بـ ٨٠ غم/لتر من السكروز ودرس تأثير أربعة تراكيز من كل من السايتوكاينينات BA أو TDZ أو Kin وهي، ٠.٠٠، ٠.٠١، ٠.١٠، ١.٠٠ملغم/لتر بالتداخل مع الأوكسين NAA بالتراكيز ٠، ١، ٢، ٣ ملغم/لتر ولكلا الهجينين وحضنت الزروعات واحتسبت النسب المئوية لنشوء الأجنة الجسمية ومعدل عدد الأجنة الجسمية المتكونة بعد شهر من الزراعة. وبغية توضيح مراحل نشوء الأجنة الجسمية المباشر فقد تم تقطيع هذه الأجنة الى شرائح رقيقة وتصبيغها وفحصها تحت المجهر وذلك استنادا" الى (١٢). نفذت الدراسة بإتباع التجارب العاملية وفق التصميم التام التعشية CRD بعشرة مكررات وقورنت المتوسطات باستعمال أقل فرق معنوي .L.S.D على مستوى احتمال ٥% لبيان الفروقات الإحصائية بين متوسطات المعاملات (٢).

النتائج والمناقشة:

١: تأثير نوع الجزء النباتي في استحثاث الأجنة الجسمية المباشر:

بينت النتائج المستحصل عليها بعد شهر من الزراعة عدم تكون الأجنة الجسمية لأي من هذه المعاملات لكل من السويقات الجنينية السفلى والأوراق الفلقية وبالمقابل نشأت الأجنة الجسمية وتطورت من الأجنة الجنسية المستأصلة من بذور هجيني الطماطة ولذلك لم تدخل السويقات الجنينية والأوراق الفلقية في عملية التحليل الإحصائي.

٢. تأثير BA وNAA والتداخل بينهما في نشوء الأجنة الجسمية المتكونة من الأجنة الجنسية:

فيما يتعلق بنسب نشوء الأجنة الجسمية من أجنة هجين الشروق الجنسية، تشير نتائج الجدول ١ الى وجود فروقات معنوية بين معدل

تراكيز NAA المستخدمة لتحفيز نشوئها، إذ اختلف التركيز ١ ملغم/لتر معنويا"عن باقي المعاملات وأعطى نسبة نشوء للأجنة بلغ ٧.٥%، أما معدل تراكيز BA فقد اختلف التركيز ٠.٠١ ملغم/لتر معنويا" عن باقي المعاملات وحفز نشوء الأجنة الجسمية بنسبة بلغت ٧.٥% من الأجنة الجنسية المزروعة، وعن تأثير التداخل بين كل من BA و NAA فقد نجحت أجنة هجين الشروق الجنسية من تكوين الأجنة الجسمية عند زراعتها على وسط MS الصلب المجهز بـ ٠.٠١ و١ ملغم/لتر من BA و NAA على الترتيب بنسبة بلغت ٢٠% والتي اختلفت معنويا" عن باقي المعاملات المضافة.

أما فيما يخص عدد الأجنة المتكونة من أجنة هجين الشروق، فيشير الجدول ١ الى تفوق معاملة التركيز ٠.٠١ ملغم/لتر من BA معنويا" عن باقي التراكيز والتي أعطت معدل ٠.٧٣ جنين جسمي. اختلف معدل تركيز NAA البالغ ١ ملغم/لتر معنويا" عن باقي التراكيز، إذ أعطى معدل عدد أجنة بلغ ٠.٦٨ جنين جسمي، أما بالنسبة للتداخل بين BA و NAA، فقد أعطت المعاملة المتكونة من ٠.٠١ و ١ ملغم/لتر من BA و NAA معدل عدد أجنة بلغ جنينين لكل جنين جنسي والتي اختلفت معنويا" عن باقي معاملات التداخل المضافة.

جدول ١ تأثير BA وNAA في النسبة المئوية لنشوء الأجنة الجسمية من الأجنة الجنسية لهجين الشروق بعد شهر من الزراعة

تراكيز BA (ملغم/لتر)	تراكيز NAA (ملغم/لتر) ٠	١	٢	٣	معدل تراكيز BA
٠.٠٠	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
٠.٠١	0.00	20.00	10.00	0.00	7.50
	0.00	2.00	0.90	0.00	0.73
٠.١٠	0.00	10 .00	0.00	0.00	2.50
	0.00	0.70	0.00	0.00	0.18
١.٠٠	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
معدل تراكيز NAA	0.00	7.50	2.50	0.00	
	0.00	0.68	0.23	0.00	
أ.ف.م. ٠.٠٥	تراكيز BA= ٠.٠٠١٨١ تراكيز NAA= ٠.٠٠٠١٨ BA X NAA = ٠.٠٠٣٦١		تراكيز BA=٩.٠٧ تراكيز NAA= ٩.٠٧ BA X NAA= ١٨.١٣		

النسبة المئوية لنشوء الأجنة الجسمية (%) — معدل عدد الأجنة الجسمية المتكونة (مظلل)

أما بالنسبة للنسب المئوية لنشوء الأجنة الجسمية لهجين GS-١٢، يشير الجدول ٢ الى تفوق التركيز ٠.١ ملغم/لتر من BA معنويا" عن باقي التراكيز والذي أعطى نسبة نشوء مئوية بلغت ١٠%. واختلف معدل NAA المضاف بتركيز ١ ملغم/لتر معنويا" عن باقي المعاملات، إذ أعطى

نسبة نشوء بلغت ١٠%. أما التداخل بين BA وNAA فقد اختلفت المعاملة المتكونة من ٠.١ و ١ ملغم/لتر من هذين المنظمين معنويا" عن باقي المعاملات وأعطت نسبة نشوء للأجنة بلغت ٣٠%.

فيما يتعلق بمعدل عدد الأجنة المتكونة من الأجنة الجنسية لهجين GS-١٢، فيوضح الجدول 2 إن التركيز ٠.١ ملغم/لتر من BA اختلف معنويا" عن باقي التراكيز وأعطى معدل عدد أجنة بلغ ٠.٥٣ جنين/جنين جنسي، واختلف تركيز NAA البالغ ١ ملغم/لتر معنويا" عن باقي المعاملات المضافة، والذي أعطى معدل عدد أجنة بلغ ٠.٥٨ جنين جسمي. أما معاملات التداخل بين BA و NAA، فقد حفزت المعاملة المضافة بالتراكيز ٠.١ و ١ ملغم/لتر من هذين المنظمين من تكوين ١.٥جنين جسمي/جنين جنسي والتي اختلفت معنويا" عن باقي معاملات التداخل المضافة.

جدول ٢ تأثير BA وNAA في نشوء الأجنة الجسمية من الأجنة الجنسية لهجين GS-١٢ بعد شهر من الزراعة

تراكيزBA (ملغم/لتر)	تراكيز NAA (ملغم/لتر)				معدل تراكيز BA
	٠	١	٢	٣	
٠.٠٠	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
٠.٠١	0.00	0.00	١٠.٠٠	0.00	2.50
	0.00	0.00	0.50	0.00	0.13
٠.١٠	0.00	30.00	10.00	0.00	10.00
	0.00	1.50	0.60	0.00	0.53
١.٠٠	0.00	10.00	10.00	0.00	5.00
	0.00	0.80	0.50	0.00	0.33
معدل تراكيز NAA	0.00	10.00	7.50	0.00	
	0.00	0.58	٠.٤٠	0.00	
أ.ف.م. ٠.٠٥	تراكيزBA= ٠.٠٠٢ تراكيز NAA= ٠.٠٠٠٢ BA X NAA = ٠.٠٠٠٢		تراكيزBA=١.٢٨ تراكيز NAA= ١.٢٨ BA X NAA= ٢.٥٥		

النسبة المئوية لنشوء الأجنة الجسمية (%)   معدل عدد الأجنة الجسمية المتكونة

٣. تأثير Kin وNAA والتداخل بينهما في نشوء الأجنة الجسمية من الأجنة الجنسية:

يوضح الجدول ٣، اختلاف معدل تركيز Kin البالغ ٠.٠١ ملغم/لتر معنويا" عن باقي التراكيز المضافة، حيث بلغت النسب لمئوية لنشوء الأجنة الجسمية ١٢.٥%، وفيما يخص معدلات تراكيز NAA، اختلف التركيز ١ ملغم/لتر معنويا" عن باقي التراكيز، إذ أعطى نسبة نشوء بلغت ١٢.٥٠%. أما بالنسبة للتداخل بين Kin وNAA وتأثيره في نسب نشوء الأجنة الجسمية، فيلاحظ تفوق معاملة التداخل بين التركيزين ٠.٠١ و ١ ملغم/لتر من Kin و NAA والتي حفزت نشوء ٤٠% من الأجنة الجسمية لهجين الشروق والتي اختلفت معنويا" عن باقي معاملات التداخل.

جدول ٣ تأثير Kin وNAA في نشوء الأجنة الجسمية من الأجنة الجنسية لهجين الشروق بعد شهر من الزراعة

تراكيزBA	تراكيز NAA	معدل تراكيز

(ملغم/لتر)	(ملغم/لتر)				BA
	٠	١	٢	٣	
٠.٠٠	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
٠.٠١	0.00	٤٠.00	١٠.٠٠	0.00	12.٥0
	0.00	3.10	0.80	0.00	0.9٨
٠.١٠	0.00	10.00	30.٠0	10.00	12.٥0
	0.00	0.90	2.70	1.00	1.١٥
١.٠٠	0.00	0.00	10.00	0.00	2.50
	0.00	0.00	0.40	0.00	0.10
معدل تراكيز NAA	0.00	12.٥0	12.٥0	٢.٥0	
	0.00	1.00	0.98	0.25	
أ.ف.م. ٠.٠٥	تراكيزKin= ٠.٠٠٢ تراكيز NAA= ٠.٠٠٢ Kin X NAA = ٠.٠٠٤		تراكيزKin = ١.٥٦ تراكيز NAA= ١.٥٦ Kin X NAA = ٣.١٣		

النسبة المئوية لنشوء الأجنة الجسمية (%)

بالإضافة لنسب نشوء الأجنة المئوية، يظهر هذا الجدول أيضا" معدل أعداد الأجنة الجسمية المتكونة من أجنة هجين الشروق الجنسية، حيث نلاحظ تفوق معدل تركيز Kin البالغ ٠.١ ملغم/لتر والذي أعطى معدل بلغ ١.١٥ جنين/جنين جنسي والذي اختلف معنويا" عن باقي تراكيز Kin المضافة، وكذلك تفوق معدل تركيز NAA المضاف والبالغ ١ ملغم/لتر معنويا" عن باقي تراكيز هذا الأوكسين، أما بالنسبة للتداخل بين تراكيز Kin و NAA فقد اختلفت المعاملة المجهزة بـ ٠.٠١ و١ ملغم/لتر من Kin و NAA على الترتيب معنويا" عن باقي المعاملات وأعطت ٣.١ جنين جسمي/جنين جنسي.

فيما يتعلق بالنسب المئوية لنشوء الأجنة الجسمية من الهجين **GS-١٢**، يشير الجدول ٤ الى تفوق معدل التركيز ٠.١ ملغم/لتر من Kin معنويا" عن باقي التراكيز وأعطى أعلى نسبة نشوء بلغت ١٥% من الأجنة الجنسية المزروعة في حين أعطى معدل تركيز NAA البالغ ٢ملغم/لتر نسبة نشوء جنيني بلغت ١٢.٥% والتي

معدل عدد الأجنة الجسمية المتكونة

احسنت معنويا" عن باقي تراكيز هذا الأوكسين. أما بالنسبة للتداخل بين Kin وNAA فقد تفوقت المعاملة المجهزة بـ ٠.١ و ٢ ملغم/لتر لهذين المنظمين معنويا" عن باقي معاملات التداخل وأعطت نسبة نشوء جنيني بلغ ٣٠%.

أما بالنسبة لمعدل عدد الأجنة الجسمية المتكونة من زراعة الأجنة الجنسية لهجين ١٢-GS على الأوساط الغذائية المجهزة بتراكيز من Kin و NAA، فيظهر الجدول ٤ اختلاف معدل تركيز Kin البالغ ٠.١ ملغم/لتر والذي أعطى معدل ٠.٢٣ جنين/جنين جنسي معنويا" عن باقي التراكيز المضافة لهذا السايتوكاينين وكذلك اختلف معدل تركيز NAA البالغ ٢ ملغم/لتر معنويا" عن باقي تراكيزه المضافة وأعطى معدل بلغ ٠.٢٣ جنين جسمي، وفيما يخص التداخل بين Kin و NAA فقد اختلفت المعاملة المجهزة بـ ٠.١ و ٢ ملغم/لتر من هذين المنظمين معنويا" عن باقي معاملات التداخل وأعطت معدل عدد أجنة بلغ ٠.٠٦ جنين/جنين جنسي.

جدول 4 تأثير Kin وNAA في نشوء الأجنة الجسمية المتكونة من الأجنة الجنسية لهجين GS-١٢ بعد شهر من الزراعة

تراكيز Kin (ملغم/لتر)	تراكيز NAA (ملغم/لتر)				معدل تراكيز Kin
	0	١	٢	٣	
٠.٠٠	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
٠.٠١	0.00	١٠.00	١٠.00	0.00	5.00
	0.00	0.40	0.10	0.00	0.13
٠.١٠	0.00	20.00	30.00	10.00	15.00
	0.00	0.20	0.60	0.10	0.23
١.٠٠	0.00	0.00	10.00	0.00	2.50
	0.00	0.00	0.20	0.00	0.05
معدل تراكيز NAA	0.00	7.50	12.50	2.50	
	0.00	0.15	0.23	0.03	
أ.ف.م. ٠.٠٥	تراكيز Kin= ٠.٠٠٠١٣ تراكيز NAA= ٠.٠٠٠١٣ Kin X NAA = ٠.٠٠٠٢٦		تراكيز Kin= ١.٢٨ تراكيز NAA= ١.٢٨ Kin X NAA = ٢.٥٥		

النسبة المئوية لنشوء الأجنة الجسمية (%)

فيما يخص النسبة المئوية لنشوء الأجنة الجسمية الناتجة من زراعة الأجنة الجنسية لهجين الشروق على الأوساط الغذائية المجهزة بتراكيز من TDZ و NAA ، يشير الجدول ٥ الى تفوق معدل تركيز TDZ البالغ ٠.٠١ ملغم/لتر معنويا" عن باقي التراكيز وأعطى نسبة نشوء جنيني بلغت ٤٠%، فيما اختلف معدل التركيز ٢ ملغم/لتر من NAA معنويا" عن باقي تراكيز هذا الأوكسين وأعطى نسبة نشوء بلغت ٢٧.٥%. أما بالنسبة لمعاملات التداخل فقد ارتفعت هذه النسبة الى ٩٠% عند استخدام المعاملة المجهزة بالتراكيز ٠.٠١ و ٢ ملغم/لتر من كل من TDZ و NAA على الترتيب والتي تفوقت معنويا" عن باقي معاملات التداخل.

معدل عدد الأجنة الجسمية المتكونة

بالإضافة لنسب نشوء الأجنة المئوية، يظهر هذا الجدول أيضا" معدل أعداد الأجنة الجسمية المتكونة، ويلاحظ تفوق معدل تركيز TDZ البالغ ٠.٠١ ملغم/لتر معنويا" عن باقي التراكيز والذي أعطى ٦.٠٣ جنين/جنين جنسي. أما معدل تراكيز NAA فقد أعطى التركيز ٢ ملغم/لتر معدل عدد أجنة بلغ ٤.٠٨ جنين/جنين جنسي والذي اختلف معنويا" عن باقي تراكيز هذا الأوكسين. ويلاحظ تفوق معاملة التداخل بين TDZ و NAA بالتركيز ٠.٠١ و ٢ ملغم/لتر معنويا" عن جميع المعاملات الأخرى، إذ حفزت هذه المعاملة من تكوين ١٣.١ جنين/جنين جنسي.

جدول ٥ تأثير TDZ وNAA في نشوء الأجنة الجسمية المتكونة من الأجنة الجنسية لهجين الشروق بعد شهر من الزراعة

تراكيز TDZ (ملغم/لتر)	تراكيز NAA (ملغم/لتر)				معدل تراكيز TDZ
	٠	١	٢	٣	
٠.٠٠	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
٠.٠١	0.00	5٠.00	9٠.00	20.00	٤٠.٠٠
	0.00	8.50	13.10	2.50	6.03
٠.١٠	0.00	20.00	20.00	10.00	12.50
	0.00	3.90	3.20	1.50	2.15
١.٠٠	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
معدل تراكيز NAA	0.00	١٧.٥٠	٢٧.٥٠	7.50	
	0.00	3.10	4.08	1.00	
أ.ف.م. ٠.٠٥	تراكيزTDZ= ٠.٠٠٣ تراكيز NAA= ٠.٠٠٣ TDZ X NAA = ٠.٠6		تراكيزTDZ =٢٠.١٩ تراكيز NAA= ٢٠.١٩ TDZ X NAA = ٤٠.٣٩		

النسبة المئوية لنشوء الأجنة الجسمية (%)   معدل عدد الأجنة الجسمية المتكونة

أما بالنسبة لهجين GS -١٢، فتشير بيانات الجدول ٦ الى تفوق معدل تركيز TDZ البالغ ٠.١ ملغم/لتر معنويا" عن باقي المعاملات والذي أعطى نسبة نشوء بلغ ٤٢.٥٠% من الأجنة الجنسية المزروعة لهذا الهجين وكذلك تفوق معدل تركيز NAA والبالغ ٢ ملغم/لتر معنويا" عن باقي التراكيز وأعطى نسبة نشوء بلغت ٤٥%. فيما يخص التداخل بين TDZو NAA فقد استجابت الأجنة الجنسية المزروعة على وسط MS المجهز بـ ٠.١ و ٢ ملغم/لتر من TDZو NAA وأعطت نسبة نشوء بلغت ٩٠% التي اختلفت معنويا" عن باقي معاملات التداخل الأخرى.

أما فيما يخص معدل عدد الأجنة الجسمية المتكونة، فيشير الجدول ٦ الى اختلاف معدل تركيز TDZ البالغ ٠.١ ملغم/لتر معنويا" عن باقي التراكيز، إذ أعطى أعلى معدل عدد للأجنة المتكونة بلغ ٦.٢٣ جنين جسمي/جنين جنسي، كما يلاحظ إن تركيز NAA البالغ ٢ ملغم/لتر أعطى أعلى معدل لعدد الأجنة بلغ ٥.٦ جنين جسمي والذي اختلف معنويا" عن باقي تراكيز هذا الأوكسين، أما بالنسبة للتداخل بين TDZ و NAA، فقد اختلفت المعاملة المجهزة بالتراكيز ٠.١ و ٢ ملغم/لتر من هذين المنظمين معنويا" عن باقي معاملات التداخل وأعطت معدل عدد أجنة بلغ ١٣.٥ جنين جسمي/جنين جنسي.

جدول٦ تأثير TDZ وNAA في نشوء الأجنة الجسمية المتكونة من الأجنة الجنسية لهجين GS-١٢ بعد شهر من الزراعة

تراكيزTDZ (ملغم/لتر)	تراكيز NAA (ملغم/لتر)				معدل تراكيز TDZ
	0	١	٢	٣	
٠.٠٠	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

٠.٠١	0.00	20.00	٥٠.٠٠	10.00	20.٠0
	0.00	1.50	4.00	0.90	1.60
٠.١٠	0.00	5٠.00	٩٠.٠٠	٣٠.٠٠	٤٢.٥٠
	0.00	7.10	13.50	4.30	6.23
١.٠٠	0.00	4٠.00	40.00	10.00	٢٢.٥٠
	0.00	4.60	4.90	1.50	2.75
معدل تراكيز NAA	0.00	٢٧.٥٠	45.00	12.٥0	
	0.00	3.30	5.60	1.68	
أ.ف.م. ٠.٠٥	تراكيز TDZ= ٠.٠٢ تراكيز NAA= ٠.٠٢ TDZ X NAA = ٠.٠٤		تراكيز TDZ = ٩.١١ تراكيز NAA= ٩.١١ TDZ X NAA = ١٨.٢٢		

النسبة المئوية لنشوء الأجنة الجسمية (%)   معدل عدد الأجنة الجسمية المتكونة

يتضح من معاملات التداخل الواردة في الجداول ١، ٢، ٣، ٤، ٥، ٦ عدم تكون الأجنة الجسمية من الأجنة الجنسية المزروعة على أوساط غذائية خالية من منظمات النمو النباتية (معاملات المقارنة) أو تحتوي على تراكيز مختلفة من NAA لوحده أو تراكيز مختلفة من السايتوكاينينات لوحدها، أذ تطلب نشوء هذه الأجنة إضافة توليفات من كل من NAA والسايتوكاينين الى وسط MS المجهز بـ ٨٠ غم/لتر من السكروز، عندها نشأت الأجنة الجسمية بنسب وأعداد اختلفت باختلاف التوليفات المضافة ودلت النتائج على إن نشوء الأجنة الجسمية ازداد عند مداخلة NAA و TDZ وبتراكيز مختلفة، وأن أعلى معدلات لنسب وعدد هذه الأجنة ظهرت في الأوساط الغذائية المجهزة بتراكيز عالية من NAA (٢ ملغم/لتر) وتراكيز واطئة من TDZ (٠.٠١ و ٠.١) ملغم/لتر وهذا يعزى الى الدور الذي يؤديه التوازن بين تراكيز هذين النوعين من منظمات النمو في تحديد نمط التمايز الخلوي وتكوين الأجنة الجسمية خارج الجسم الحي. وتشير الدراسات الى إن الأوكسين يعمل على تحفيز الجينات التي يقوم السايتوكاينين بالسيطرة على تعبيرها الجيني، وأن نواتج التعبير الجيني للجينات المنظمة تؤدي دورا" أساسيا" في العمليات البيولوجية مثل انقسام الخلايا وأيض العناصر المغذية (٢٠)، فضلا" عن ذلك يعد TDZ من المركبات الشبيهة بالسايتوكاينينات Cytokinin- like compounds وذات فاعلية مشابهة للزياتين Zeatin وقد يفوقه في بعض الأحيان ويعود نشاطه الى الدور الذي تلعبه هذه المركبات في تحفيز انقسام الخلايا ونموها وخاصة تأثيرها في انقسام سايتوبلازم الخلايا والتي جاءت منها تسمية السايتوكاينينات (٧).

تتفق هذه النتائج مع ما ذكره كل من (٥، ٦، ١٤) الذين أشاروا الى إن استجابة الأجنة الجنسية المزروعة خارج الجسم الحي وتكوينها للأجنة الجسمية مرهون بإضافة السايتوكاينين والأوكسين لأوساطها الغذائية والتي تؤثر في نسب نشوئها المئوية فضلا" عن أعداد هذه الأجنة المتكونة.

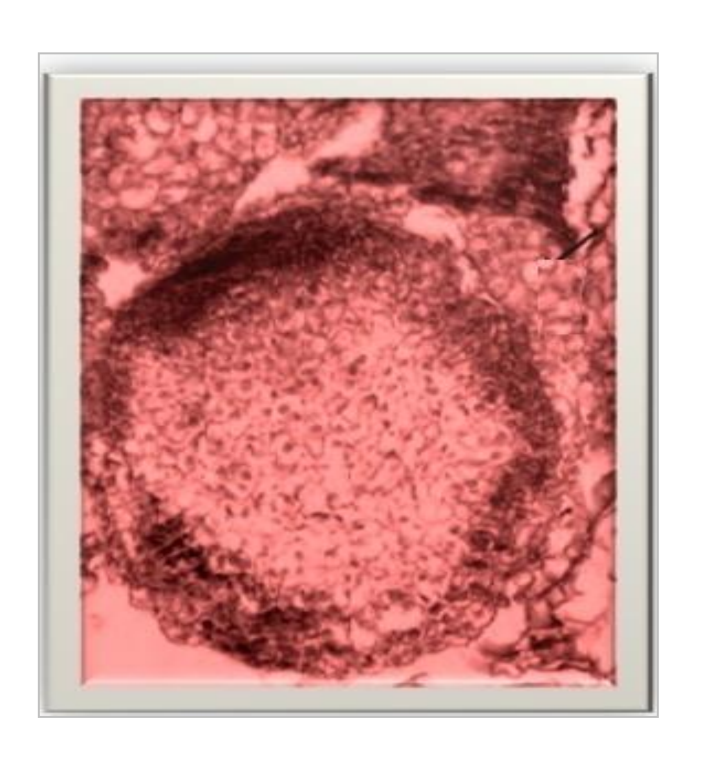
٥. الدراسة التشريحية:

من خلال هذه التجربة حصلنا على شرائح واضحة أمكن من خلالها تتبع مراحل نشوء الأجنة الجسمية المباشر لهجيني الطماطة قيد الدراسة، دون المرور بمرحلة استحثاث الكالس بدء" من تكوين الكتل أو الوحدات الجنينية Embryogenic clumps (شكل أ) التي وصفها (١٨) بكونها صغيرة الحجم متساوية الأقطار مليئة بالسايتوبلازم الكثيف وحاوية على نواة واضحة فضلا" عن رهافة

جدرانها الخلوية ويلاحظ اصطباغها باللون الأحمر نتيجة كثافة سايتوبلازمها مما يؤكد طبيعتها الجنينية. تعد المراحل المبكرة من تطور الأجنة الجسمية مرحلة حرجة حيث تحدد مدى استجابة الخلايا للتعبير عن قابليتها للاستحثاث الجنيني. يلي هذه المرحلة تكسر الكتل الجنينية بسبب استطالة وانفصال خلاياها التي عادة ما تحدث في المرحلة الكروية (شكل ب)(١٥) ويحصل تطورها اللاحق الذي يكون على شكل تراكيب قلبية الشكل (شكل ج) الذي سرعان ما يتحول الى الطور الطوربيدي (شكل د).



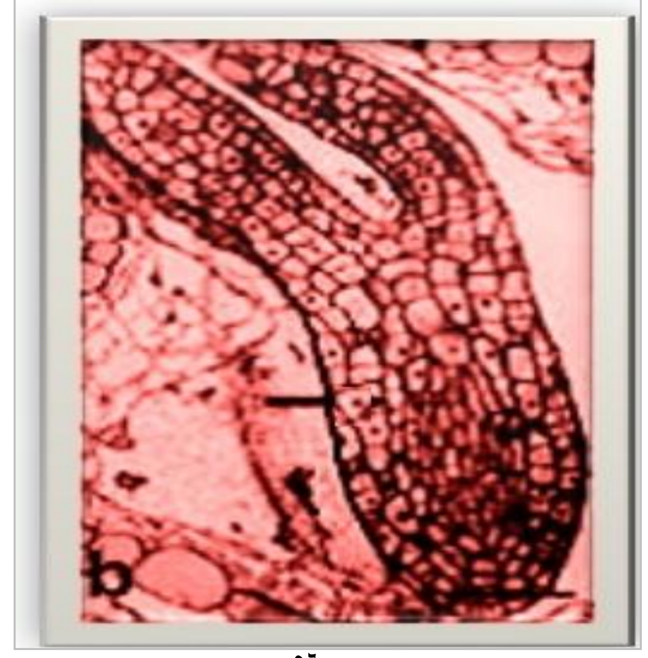
وع من زراعة



شكل ب مقطع طو
بعد ١٣ يوما" من زر
قو



شكل ج مقطع طولي للأجنة الجسمية بطورها القلبي بعد ١٩ يوما" من
زراعة الأجنة الجنسية لهجين GS-12
قوة التكبير(١٠٠ مرة)



شكل د مقطع ط
بعد ٢٤ يوما" من زرا
ة

المصادر

١. أبو ضاحي، يوسف محمد; الالوسي، يوسف أحمد و الجنابي، إيناس عبد الدائم. تأثير إضافة البوتاسيوم الى التربة والرش في الحاصل ومكوناته للطماطة المزروعة في البيت البلاستيكي.٢٠٠٧. مجلة العلوم الزراعية العراقية. ٣٨(١):٤٥–٥٤.

٢. الساهوكي، مدحت ووهيب، كريمة محمد. ١٩٩٠. تطبيقات في تصميم وتحليل التجارب. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. العراق. ص ١٨١–٣٠١.

٣.المنظمة العربية للتنمية الزراعية. ٢٠٠٩. الكتاب السنوي للإحصاءات الزراعية العربية، المجلد ٢٦، ص ٦٣.

٤.عبد الرسول، أيمان جابر; الصحاف، فاضل حسين و بكتاش، فاضل يونس. وراثة بعض الصفات الكمية والنوعية في التضريبات بين الأنواع في الطماطة. ٢٠٠٣. مجلة العلوم الزراعية العراقية.٣٤(٣):٦٣–٦٨.

٥.مطلوب، عدنان ناصر; سلطان، عز الدين و عبدول، كريم صالح. ١٩٨٠. إنتاج الخضر. مطابع مديرية دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل، العراق. ص ٤٣–٤٥.

6. Arous, S.; M. Boussaid and M. Marrakchi. 2001. Plant regeneration from zygotic embryo hypocotyls of Tunisian chilli (*Capsicum annuum* L.). J. Appl. Hort., 3(1):17-22.

7. Binzel, M.; N. Sankhla; S. Joshi and D. Sankhla. 1996. Induction of somatic embryogenesis and plant regeneration in pepper (*Capsicum annuum* L.). Plant Cell Reports, 15:536-540.

8. Bodhipadma, K. and D.W.M. Leung. 2002. Factors important for somatic embryogenesis in zygotic embryo explants of *Capsicum annuum* L., Journal of Plant Biology, 45(1):49-55.

9. Fillman, C. D.; P. E. Read and M. A. Hosier. 1987. Effect of Thidiazuron and CPPU on meristem formation and shoot proliferation, Hortscience, 22:1197-1200.

10. Gubis, J.; Z. Lajchova; J. Farago and Z. Jurekova. 2004. Effect of growth regulators on shoot induction and plant regeneration in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Biologia, Bratislava, 59(2):405-408.

11. Harini, I. and G. L. Sita. 1993. Direct somatic embryogenesis and plant regeneration from immature embryos of chilli (*Capsicum annuum* L.). Plant Science, 89(1):107-112.

12. Inocente G.C.C.; L.L.D. Vesco and M.P. Guerra. 2007. Improvements in somatic embryogenesis protocol in Feijoa; Induction, conversion and synthetic seeds. Scientia Horticulturae, 111,228-234.

13. Ipekci, Z. And N. Gozukirmizi. 2003. Direct somatic embryogenesis and synthetic seed production from *Paulownia elongata*. Plant Cell Reports, 22:16-24.

14. Johanson, D.A. 1940. Plant Microtechnique. New York and London. McGraw-Hill Book Co., Inc. C.F. Hameed, M.K.2001.

Vegetative propagation of some date palm (*Phoenix dactylifera* L.)cultivars through tissue culture technique. A dissertation. College of agriculture. Univ. Of Baghdad. Iraq, PP.61 - 95.

15. Kantharajah, A.S. and P.G.Golegaonkar. 2004. Review, somatic embryogenesis in eggplant. Scientia Horticulturae, 99:107-117.

16. Kaparakis, G. and P. G. Alderson. 2008. Role for Cytokinin in somatic embryogenesis of pepper. J. Plant Growth Regul., 27:110-114.

17. Krikorian, A.D. 1995. Hormones in Tissue culture and Micropropagation. pp.774-795.

18. Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco cultures. Physiol. Plantarum, 15: 473-497.

19. Neumann, H; Kumar, A. and Imani, J. 2009. Plant Cell and Tissue culture- A tool in Biotechnology. Basics and applications. Germany, pp. 90-137.

20. Ramawat, K. G. 2004. Plant Biotechnology. S. Chand and company LTD. Ram Nagar, New Delhi, India. pp. 1-169.

21. Schmülling, T.; S. Schäfer and G. Romanov. 1997. Cytokinins as regulators of gene expression. Physiol. Plant, 100(3):505. (Abstract).

22. Skoog, F. and C. O. Miller. 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured *In vitro*. Symp. Soc. Exp. Biol., 11:118-148.

23. Steinitz, B.; M. Kosek; Y. Tabib; I. Paran and A. Zelcer. 2003. Pepper (*Capsicum annuum* L.) regeneration obtained by direct somatic embryogenesis fail to develop a shoot. *In vitro* Cellular and Developmental Biology. Planta, 39(3):296-303.

24. Stern, K.R.; S. Jansky and J. E. Bidlack. 2003. Introductory Plant Biology. 4th. Edition, USA, p. 461-485.